المراجعة النهائية فى RNA وتخليق البروتين والهندسة الوراثية

الفصل 6



اعداد :

Mr-Yasser Basem

Tell- 01272755509

01023967202

النجاح الذى تستمتع به اليوم هو نتيجة الثمن الذى دفعته فى الماضى .

الأحماض النووية الريبوزية :-

- شريط RNA مفرد يتكون من وحدات "نيوكليوتيدات" وتتكون كل نيوكليوتيدة من :-

- جزئ سكر خماسى الكربون يسمى الريبوز(يحتوى على ذرة اكسجين اكثر من ديوكسى ريبوز) ؛ مجموعة فوسفات تتصل بذرة الكربون رقم ((٥) لجزئ السكر ؛ قاعدة نيتروجينية تتصل بذرة الكربون رقم (١) لجزئ السكر (أدينين(A)
- جوانين(G) - سيتوزين (C) - يوراسيل (U)) .

الحمض النووى الرسول m-RNA	الحمض النووى الريبوسومى r-RNA	الحمض النووى الناقل t-RNA
- ينسخ RNA من أحد شريط DNA بواسطة أنزيم بلمرة RNA من عند تتابع النيوكليوتيدات على شريط ال DNA يسمى المحفز (تتابع من النيوكليوتيدات يوجد على أحد شريط DNA يوجه انزيم بلمرة RNA نحو الشريط المراد نسخه) . - ينفصل شريط DNA عن بعضهما حيث يعمل أحداهما كقالب لبناء RNA حيث يقوم الأنزيم ببناء RNA فى اتجاه٥-----٣ من القالب فى اتجاه ٣----٥ .		
- فى بداية كل m-RNA يوجد موقع الارتباط بالريبوسوم وهو تتابع للنيوكليوتيدات يرتبط بالريبوسوم - يوجد كودون البدء AUG الذى يمثل شفرة حمض الميثونين وهو يؤدى الى بدء عملية تخليق البروتين - فى نهاية m-RNA يوجد كودون الوقف (UAA-UGA-UAG) وذيل عديد الأدينوزين (يتكون من حوالى ٢٠٠ قاعدة أدينين) كلاهما لا يمثل شفرة لأحماض أمينية - يعمل هذا الذيل لحماية m-RNA من التحلل فى السيتوبلازم بواسطة الأنزيمات الموجودة به .	- ينسخ من اكثر من ٦٠٠ جين لتكوين ٤ انواع . - التركيب الكيميائى للريبوسومات : ٤ انواع من r-RNA + ٧٠ نوع من عديدات الببتيد . - تتكون الريبوسومات فى النوية وتخرج للسيتوبلازم بالألاف كل ساعة . - يوجد اكثر من نوية فى بعض الخلايا الغدية لانتاج عدد اكبر من الريبوسومات لانتاج البروتينات . - التركيب الوظيفى للريبوسوم : يتكون من تحت وحدتين احداهما كبيرة والاخرى صغيرة ويوجد على القطعة الكبرى موقعين : الببتيديل(P) وأمينوأسيل (A) . - ترتبط كل تحت وحدة كبيرة بتحت وحدة صغيرة عند بدء تكوين سلسلة عديد الببتيد وينفصلان عن بعضهما عند الانتهاء من تخليق البروتين .	- ينسخ من جينات على DNA توجد فى تجمعات من ٧-٨ جينات . - شريط مفرد ويزدوج فى بعض اجزاءه . - يوجد موقعان على t-RNA لهما دورفى تخليق البروتين هما : - CCA : يوجد عند الطرف ٣وهو الخاص بالارتباط مع الحمض الامينى الخاص به . - مقابل الكودون : الذى تتزاوج قواعده مع قواعد m-RNA بحيث يحدث ارتباط مؤقت بين t-RNA و m-RNA مما يسمح للحمض الامينى المحمول على t-RNA بالدخول فى سلسلة عديد الببتيد . - يقوم t-RNA بنقل الأحماض الامينية إلى الريبوسومات . - لكل حمض أمينى t-RNA ناقل خاص به يقوم بنقله . - الأحماض الامينية التى لها أكثر من شفرة يكون لها أكثر من نوع من t-RNA لذا يكون عدد t-RNA أكثر من ٢٠ نوع .

الشفرة الوراثية :-

عبارة عن تتابع من النيوكليوتيدات فى ثلاثيات على m-RNA والتى تم نسخها من أحد شريط DNA .

الشفرة أحادية	4^1	٤ احتمالات	١٦ حمض امينى بلا شفرات .
الشفرة ثنائية	4^2	١٦ احتمال	٤ احماض امينية بلاشفرات .
الشفرة ثلاثية	4^3	٦٤ احتمال	كل حمض امينى له شفرة او اكثر.

الكودون :-

شفرة الحمض الامينى وتتكون من ٣ نيوكليوتيدات .

تضاعف DNA	
أوليات النواة	حقيقيات النواة
يتم فى السيتوبلازم	يتم فى النواة
انزيمات اللولب - البلمرة - الربط	
تكوين ٢ جزئ DNA من جزئ DNA واحد	
يحدث بطول جزئ DNA ومن كلا شريطيه	
يبدأ تضاعف DNA عند بدء انقسام الخلية	
تحتاج الى نيوكليوتيدات	

نسخ RNA	
أوليات النواة	حقيقيات النواة
يتم فى السيتوبلازم	يتم فى النواة
انزيم بلمرة ينسخ كل الانواع الثلاثة	لكل نوع من RNA له انزيم بلمرة خاص بنسخه
تكوين RNA من أحد شريط DNA	
يحدث فى جزء من DNA ومن أحد شريطيه (الجين)	
تحتاج الى ريبونيوكليوتيدات	

ترجمة البروتين	
أوليات النواة	حقيقيات النواة
تتم فى السيتوبلازم	
انزيم نازع للماء(من القطعة الكبرى) يعمل على تكوين الرو ابط الببتيدية بين الاحماض الأمينية .	
تكوين سلسلة عديد ببتيد من m-RNA	
يحدث من كودون البدء وحتى كودون الوقف	
يبدأ تخليق سلسلة عديد الببتيد أثناء عملية النسخ .	يبدأ تخليق سلسلة عديد الببتيد بعد الانتهاء من عملية النسخ .
تحتاج الى احماض امينية	

تتابع لا ينسخ ولا يترجم	الاجزاء التى بلا شفرات على DNA الحبيبتان الطرفيتان للكروموسوم - بداية كل جين .
تتابع ينسخ ولا يترجم	كودونات الوقف UAG-UGA-UAA تعمل على ايقاف عملية الترجمة ولا تمثل شفرات لأحماض امينية .
تتابع لا ينسخ ويترجم	المادة الوراثية لبعض الفيروسات التى محتواها RNA مثل :- فيروس الايدز .
تتابع ينسخ ويترجم	كل شفرات الاحماض الامينية (٦١ شفرة) .

تخليق البروتين :-

١) يخرج m-RNA من ثقوب الغشاء النووى إلى السيتوبلازم .
٢) ترتبط وحدة الريبوسوم الصغرى ب m-RNA من جهة الطرف ٥ بحيث يكون أول كودون AUG متجها للخارج .
٣) يأتى t-RNA حاملا حمض الميثونين ويرتبط مضاد الكودون مع قواعد AUG على m-RNA وبذلك يصبح الميثونين أول حمض أمينى فى سلسلة عديد الببتيد(مضاد الكودون على t-RNA الذى يحمل الميثونين هو UAC) .
٤) ترتبط تحت وحدة الريبوسوم الكبرى بالمركب السابق وعندئذ تبدأ تفاعلات بناء البروتين .
٥) يقوم t-RNA بنقل الحمض الامينى الثانى حسب شفرته على m-RNA بحيث يصبح الحمض الامينى الثانى فى موقع الامينوأسيل (A) ثم يحدث تفاعل نقل الببتيديل ينتج عنه ارتباط الحمض الامينى الأول بالثانى برابطة ببتيدية بمساعدة إنزيم منشط تنتجة تحت وحدة الريبوسوم الكبرى .
٦) يترك t-RNA الذى كان يحمل الميثونين موقع الريبوسوم ليلتقط ميثيونيا آخر أما t-RNA الأخر فيحمل الحمضين الأمينين .
٧) تتحرك الريبوسوم على امتداد m-RNA بحيث يصبح الموقع A خالى ويصبح الحمض الامينى الثانى أمام الموقع P .
٨) يقوم t-RNA آخر بنقل الحمض الأمينى الثالث حسب شفرة m-RNA بحيث يصبح هذا الحمض فى موقع A .
٩) يحدث تفاعل نقل الببتيديل حيث يرتبط الحمض الامينى الثانى بالثالث برابطة ببتيدية ....وهكذا .
١٠) تقف عملية بناء البروتين عندما يصل الريبوسوم إلى كودون الوقف على m-RNA حيث يرتبط بروتين يسمى عامل الاطلاق بكودون الوقف مما يجعل الريبوسوم يترك m-RNA وتنفصل وحدتا الريبوسوم عن بعضهما وتتحرر سلسلة عديد الببتيد المتكونة .

عديد الريبوسوم :- يتم ترجمة m-RNA إلى البروتين المقابل من خلال عدد من الريبوسومات يصل إلى مائة تتحرك فى تتابع منتظم على m-RNA لانتاج كميات كبيرة من البروتين .

التكنولوجيا الجزيئية "الهندسة الوراثية" :

	DNA مهجن	DNA معاد الاتحاد
التعريف	لولب مزدوج يتكون من شريطين أحدهما من كائن والشريط المتكامل معه من كائن آخر (أى شريطين مفردين من DNA أو RNA يمكنها أن تتزواج إذا وجد بينهما تتابعات ولو قصيرة من القواعد المتكاملة) .	إدخال جزء من DNA الخاص بكائن حى إلى خلايا كائن حى آخر ويمكننا باستخدام هذه التقنية من إدخال جينات طبيعية إلى خلايا بها جينات غير سليمة .

طريقة الحصول عليه	١- مزج الأحماض النووية من مصدرين مختلفين (نوعين من الكائنات الحية) ثم رفع درجة الحرارة إلى ١٠٠° يؤدى ذلك إلى كسر الروابط الهيدروجينية و انفصال جزئيات DNA إلى أشرطة مفردة . ٢- يتم تبريد المخلوط فيحدث ازدواج القواعد النيتروجينية المتكاملة بين الشرائط المختلفة عن طريق تكوين روابط هيدروجينية جديدة .	١- قطع كل من DNA والبلازميد بانزيم قصر من نفس النوع للحصول على اطراف لاصقة متماثلة . ٢- يتم لصق الاطراف اللاصقة بواسطة انزيم الربط . ٣- يتم ادخال البلازميد المعدل (معاد الاتحاد) الى البكتيريا او فطر الخميرة أو الى خلايا اخرى .
الاستخدامات	١- الكشف عن وجود جين معين داخل محتواه الجينى وكميته . - ويتم ذلك عن طريق تكوين شريط مفرد من DNA صناعى باستخدام عناصر مشعة (حتى يسهل التعرف عليه بعد ذلك) - يخلط شريط DNA المشع مع جينات المحتوى الجينى ويرفع درجة الحرارة إلى ١٠٠ م ثم تبرد بهدف الحصول على DNA هجين(أحد شريطين طبيعى والشريط المتكامل معه مشع) . - فى حالة تكوين هذا DNA الهجين يكون دليل على وجود DNA المراد البحث عنه و أيضا يمكن تحديد كميته من خلال السرعة التى يكون بها اللوالب الهجينة . ٢- تحديد درجة القرابة بين الكائنات الحية (تحديد العلاقات التطورية بين الأنواع المختلفة) : - نحصل على DNA هجين من نوعين مختلفين من الكائنات ثم نرفع درجة حرارتها ؛ كلما كان درجة الحرارة اللازمة لانفصال الشريطين كبيرة دليل على درجة الترابط بينهما . - أى كلما كانت العلاقات التطورية اقرب بين نوعين كلما تشابه تتابع نيوكليوتيدات DNA بهما وزادت درجة التهجين بينهما .	١- علاج مرضى السكر (نقص الأنسولين) :- يتم زرع بلازميد يحتوى جين إنتاج الأنسولين داخل خلايا بكتيرية فتصبح البكتيريا منتجه للأنسولين ويمكن زرعها فى أمعاء الإنسان . - الأنسولين البشرى المصنع بواسطة DNA معاد الاتحاد (فى البكتيريا) أفضل لبعضى المرضى الذى لا يتحملون الفروق الطفيفة بين الأنسولين البشرى والأنسولين المستخلص من بنكرياس الماشية . ٢- علاج مرضى نقص الانترفيرون :- - الانتروفيرون :- بروتين يتكون داخل خلايا الجسم (تنتجه الخلايا المصابة) ويقاوم تضاعف الفيروسات التى محتواها RNA (مثل فيروس شلل الأطفال أوالأنفلونزا) ويقلل من الإصابة بمرض السرطان - تم عزل ١٥ جينا للانترفيرون) . ٣- إدخال جينات مقاومة لبعض إمراض نباتات المحاصيل وتقاوم نمو الاعشاب الضارة . ٤- تقل جينات (مسئولة عن تكوين العقد البكتيرية على جذور النباتات البقولية) إلى نباتات محاصيل أخرى بهدف الاستفادة من قدرة هذه البكتيريا على تثبيت نتروجين الهواء بدلا من تسميد التربة . ٥- زرع جين العيون الحمراء من سلالة الدروسوفيلا محل جين سلالة أخرى (ذات عيون بنية) فى خلايا مقررلها ان تكون أعضاء تكاثر فعند نمو الأجنة انتجت افراد تحمل صفة الجين المزروع (كانت العيون ذات لون أحمر بدلا من اللون اللبنى) . ٦- إدخال جين يحمل شفرة هرمون النمو من فأر من النوع الكبير إلى فئران من النوع الصغير؛ فنمت هذه الفئران وأصبحت فى حجم الفئران الكبيرة ؛ وقد انتقلت هذه الصفة إلى الأجيال التالية .

Mr-Yasser Basem Tell:01272755509

إنزيمات القصر البكتيرية ...

- توجد هذه الإنزيمات فى سلالات من البكتيريا - تم فصل ما يقرب من ٢٥٠ نوعا من هذه الإنزيمات - بعض البكتيريا مثل : بكتيريا ايشرشيا كولاى يمكنها أن تقاوم الفيروسات المتطفلة عليها ويرجع ذلك إلى وجود إنزيمات تتعرف على مواقع معينة فى DNA الفيروسى وتقطعه عند هذه المواقع وبذلك يصبح DNA الفيروسى قطع عديمة الفائدة .

- لا تهاجم هذا الإنزيمات DNA الخاص بالبكتيريا نفسها لان البكتيريا تقوم بإضافة مجموعات ميثيل CH_3 إلى النيوكليوتيدات التى تتعرف عليها إنزيمات القصر فى DNA البكتيرى بواسطة إنزيمات معدلة مما يجعل DNA البكتيرى مقاوما لتاثير هذا الإنزيم .

- كل إنزيم يتعرف على تتابع معين للنيوكليوتيدات مكون من ٤-٧ نيوكليوتيدات ويقطع عند أوبالقرب منه بحيث يكون تتابع القواعد النيتروجينية عند موقع القطع يكون هو نفسه على كلا الشريطين عندما يتحرك فى الاتجاه ٣

لكل إنزيم قصر القدرة على قطع جزئ DNA بغض النظر عن مصدره (فيروسى - بكتيرى - نباتى - حيوانى - انسانى) ما دام هذا الجزء يحتوى على نسخة أو أكثر من تتابعات التعرف .

- عندما تتعرف إنزيمات القصر على مواقع محددة على DNA فإنها تقطع عندها تاركة أطراف لاصقة - تتشابه الأطراف اللاصقة فى حالة استخدام نوع إنزيم واحد - يمكن الربط بين أجزاء من DNA من خلال الأطراف اللاصقة المتكاملة باستخدام إنزيمات الربط - بهذه الطريقة يمكن لصق قطع معينة من DNA بقطع أخرى من DNA آخر .

استنساخ تتابعات DNA ...

١- باستخدام البلازميد : عزل DNA المراد استنساخه ومعاملته بإنزيمات القصر يؤدى إلى قطعه تاركة أطراف لاصقة .

- عزل البلازميد من خلايا بكتيرية ومعاملته بنفس إنزيمات القصر السابقة (يتعرف على نفس المواقع ويقطع عندها تارك نفس الأطراف اللاصقة) .

- يستخدم إنزيم الربط لكى تتزواج الأطراف اللاصقة لكل من DNA والبلازميد ويتم إدخاله بعد ذلك إلى الخلية البكتيرية أو خلية خميرة بعد معاملتها ببعض المواد التى تزيد من نفاذية أغشية البكتيريا لكى تسمح بنفاذ البلازميد المعدل (معاد الاتحاد) ومع انقسام خلايا البكتيريا تتضاعف البلازميدات .

- يتم عزل هذه البلازميدات ومعاملتها بنفس إنزيمات القصر السابقة لتقطع عند مواقع الالتحام ويطلق الجين من البلازميد .

- يتم فصل الجينات عن البلازميدات بالطرد المركزى وبذلك يمكن الحصول على قطع DNA (لتحليلها ومعرفة تتابع النيوكليوتيدات بها أو زرعها فى خلايا اخرى) .

٢- باستخدام جهاز PCR :

- يقوم هذا الجهاز بمضاعفة قطع DNA باستخدام إنزيم (تاك بوليميريز) .

- يعمل هذا الإنزيم عند درجة حرارة مرتفعة (يستخلص من بكتيريا تعيش فى أجواء حارة جدا) .

- يمكن باستخدام هذا الجهاز لمضاعفة قطع DNA آلاف المرات فى فترة زمنية قصيرة .

كيف يمكن الحصول على DNA المراد نسخه ؟ يتم بطريقتين هما :

١- يفصل DNA من المحتوى الجيني للخلية : واستخدام إنزيمات القصر للحصول على الجين المراد استنساخه .

٢- من m-RNA كالأتى :- أ- يتم عزل m-RNA من بعض الخلايا النشطة مثل :- خلايا البنكرياس .

ب- يستخدم m-RNA كقالب لبناء شريط DNA بإنزيم النسخ العكسى (يوجد فى الفيروسات التى محتواها الجينى RNA) .

ج- يتم إزالة m-RNA بتحليله بالإنزيمات .

د- يتم تكوين شريط DNA المتكامل معه بواسطة إنزيم بلمرة DNA فنحصل على DNA لولب مزدوج .

- تحتوى الفيروسات التى محتواها الجينى RNA على شفرة إنزيم النسخ العكسى حتى يمكنها تحويل مادتها الوراثية من RNA إلى DNA لكى ترتبط مع DNA لخلية العائل وبذلك تضمن تضاعفها .

الجينوم البشرى :- المجموعة الكاملة للجينات فى خلايا الإنسان .

- ترتب الكروموسومات حسب حجمها من الاكبر(١) إلى الاصغر(٢٢) ويستثنى زوج الكروموسومات الجنسية من الترتيب بوضعه برقم(٢٣) رغم انه فى الترتيب الثامن من حيث الحجم .

- فى عام ١٩٨٠ ظهرت فكرة الجينوم وكان عدد الجينات البشرية التى تعرف عليها العلماء حوالى ٤٥٠ جين وفى منتصف الثمانينات تضاعف العدد ثلاث مرات ليصل إلى ١٥٠٠ جين .

- بعض هذه الجينات كانت المسببة لزيادة الكوليسترول فى الدم (أحد أسباب مرض القلب) وبعضها يمهد للإصابة بالأمراض السرطانية .

- يوجد ما بين ٦٠-٨٠ ألف جين فى الإنسان موجودة على ٢٣ زوج من الكروموسومات وقد تم اكتشاف تركيب أكثر من نصف هذه الجينات .

رقم الكروموسوم	الجينات المحموله عليه
٨	جين البصمة .
٩	جينات تحدد فصيلة الدم A-B-O .
١١	جين الأنسولين وجين الهيموجلوبين .
٢٣(X)	جين العمى اللونى وجين الهيموفيليا والجينات المسئولة عن تكوين الأعضاء الجنسية الأنثوية .

الإنزيم	دوره	تأثيره على الروابط
ديوكسى ريبونيوكليز	تحليل DNA تحليلا كاملا	كسر الروابط التساهمية والهيدروجينية
اللولب	فصل شريط DNA	كسر الروابط الهيدروجينية
البلمرة	بناء شريط DNA جديد	تكوين روابط تساهمية
الربط	ربط قطع شريط DNA جديد ؛ اصلاح عيوب ال DNA	تكوين روابط تساهمية
بلمرة RNA	بناء جزئ RNA من تتابعات أحد شريط DNA	تكوين روابط تساهمية
القصر	قطع DNA عند مواقع محددة	كسر الروابط التساهمية والهيدروجينية
المعدلة	اضافة مجموعات ميثيل إلى مواقع التعرف على DNA	تكوين روابط تساهمية
تاك بوليميريز	استنساخ قطع DNA	تكوين روابط تساهمية
النسخ العكسى	بناء شريط من DNA من تتابعات على m-RNA	تكوين روابط تساهمية
تكوين بولى ببتيد	تكوين سلاسل عديد الببتيد	تكوين روابط ببتيدية

عدد الأحماض الأمينية	عدد الروابط الببتيدية المتكونة	عدد جزيئات الماء المتكونة	عدد كودونات m-RNA	عدد نيوكليوتيدات m-RNA	عدد نيوكليوتيدات DNA المزدوج	عدد لفات DNA الجين
س	ص=	ع=	ل=	م=	ن=	ي=
س	س-١	س-١	س+١	لX٣	مX٢	ن÷٢٠
٩٩	٩٨	٩٨	١٠٠	٣٠٠	٦٠٠	٣٠

	النواة	النوية	السيتوبلازم	الريبوسومات
تضاعف DNA	√(حقيقيات النواة)	X	√(أوليات النواة)	X
نسخ m-RNA	√(حقيقيات النواة)	X	√(أوليات النواة)	X
تكوين الريبوسومات	X	√(حقيقيات النواة)	√(أوليات النواة)	X
تكوين الروابط الببتيدية	X	X	X	√